



UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL POLVILLO DE CARBÓN MINERAL EN EL
AGUA DE MAR SOBRE LA FISIOLÓGIA ENERGÉTICA DEL BIVALVO

Argopecten nucleus

ZAMIR BENITEZ POLO

Documento final del trabajo de investigación presentado al comité de evaluación
para optar al título de Biólogo

DIRECTORA

LUZ ADRIANA VELASCO CIFUENTES *Ph.D.*

Asesora:

JUDITH BARROS GOMEZ *Ms.C.*

SANTA MARTA D.T.C.H.

2018

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	8
Abstract	9
1. INTRODUCCIÓN	10
2. HIPÓTESIS.....	13
3. OBJETIVOS	13
3.1. Objetivo general.....	13
3.2. Objetivos específicos.....	13
4. METODOLOGIA.....	14
4.1. Área de estudio	14
4.2. Obtención y mantenimiento de especímenes	14
4.4. Diseño experimental	15
4.3. Preparación de las dietas con carbón	16
4.5. Caracterización de la dieta	17
4.6. Determinación de variables fisiológicas.....	18
4.6.1. Tasas de adquisición energética.....	18
4.6.1.1. Tasa de filtración (TF)	18
4.6.1.2. Tasa de producción de pseudoheces (TS)	18
4.6.1.3. Tasa de ingestión (TI)	19
4.6.1.4. Tasa de absorción (TA)	19
4.6.1.5. Eficiencia de absorción (AE)	20
4.6.2. Tasas de salidas energéticas	20
4.6.2.1. Tasa consumo de oxígeno (TCO)	20
4.6.2.2. Tasa de excreción (TE).....	20
4.6.3. Estandarización y transformación de tasas fisiológicas	21
4.6.4. Balance energético	22
4.6.4.1. Crecimiento potencial (SFG).....	22
4.7. Análisis estadísticos.....	22
5. RESULTADOS	23
5.1. Caracterización de la dieta	23

5.2. Determinación de variables fisiológicas.....	23
5.2.1. Tasas de adquisición energéticas	23
5.2.1.1. Tasa de filtración	23
5.2.1.2. Tasa de producción de pseudoheces	24
5.2.1.3. Tasa de ingestión.....	25
5.2.1.4. Eficiencia de absorción.....	26
5.2.1.5. Tasa de absorción.....	26
5.2.2. Tasas de salidas energéticas	27
5.2.2.1. Tasa consumo de oxígeno	27
5.2.2.2. Tasa de excreción	28
5.2.3. Balance energético.....	28
5.2.3.1. Crecimiento potencial	28
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
6.1. Tasas de adquisición energéticas	30
6.1.1. Tasa de filtración (TF)	30
6.1.2. Tasa de producción de pseudoheces (TS)	30
6.1.3. Tasa de ingestión (TI)	31
6.1.3. Eficiencia de absorción (EA)	32
6.1.4. Tasa de absorción (TA)	32
6.2. Tasas de salidas energéticas.....	33
6.2.1. Tasa consumo de oxígeno (TCO)	33
6.2.2. Tasa de excreción (TE).....	34
6.3. Balance energético	34
6.3.1. Crecimiento potencial (SFG).....	34
7. CONCLUSIONES	36
8. RECOMENDACIONES	37
9. BIBLIOGRAFÍA	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de la dieta de <i>Argopecten nucleus</i> compuesta de la microalga <i>I. galbana</i> y de carbón mineral particulado (CMP). Contenido de material orgánico (MOP) y contenido energético (E).	23
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de la Bahía de Taganga. fuente: Google Earth, Digital Globe, 2017.	14
Figura 2. Limpieza, medición, pesaje y mantenimiento de animales.....	15
Figura 3. A. Microalga <i>I. galbana</i> , B. Partículas de carbón mineral bituminoso.	16
Figura 4. Montaje de los experimentos para la determinación de las variables fisiológicas.	17
Figura 5. Filtrado de las muestras de las dietas suministradas.	17
Figura 6. Separación y colecta de biodepositos (heces y pseudoheces).	19
Figura 7. Incubación en las cámaras de respiración para la determinación de la tasa consumo de oxígeno y excreción de amonio.....	19
Figura 8. Tasa de filtración (TF) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).	24
Figura 9. Tasa de producción de pseudoheces (TS) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP)...	24
Figura 10. Relación entre el contenido orgánico del alimento (MOP) y el de las pseudoheces (TSO) producidas por <i>A. nucleus</i> en las diferentes concentraciones de material total particulado (MTP) utilizado en laboratorio.	25
Figura 12. Eficiencia de absorción (EA) de <i>argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP)...	26
Figura 13. Tasa de absorción (TA) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).	27
Figura 14. Tasa consumo de oxígeno (TCO) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP)...	27
Figura 15. Tasa de excreción (TE) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).	28
Figura 16. Crecimiento potencia (SFG) de <i>Argopecten nucleus</i> expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP)...	29

APROBACIÓN

Firma del Presidente del Jurado.

Firma del Jurado

Firma del Jurado

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Grupo de Investigación Moluscos Marinos de la Universidad del Magdalena: la Dra. Luz Adriana Velasco por sus valiosos consejos, orientación, paciencia y constante apoyo como mi directora de tesis desde que iniciaba como “*primíparo en investigación*”; a mis compañeros y amigos de lucha investigativa, los Biólogos; Cindy Güette y Yefri Villarruel, los Ingenieros Pesqueros Judith Barros, Iván Villamil, Angélica Carreño y Alix Barreto por su constante colaboración durante el desarrollo del proyecto.

Gracias al cuerpo docente y directivos del Programa de Biología de la Facultad de Ciencias Básicas por la formación y brindarme la oportunidad de desarrollarme como Biólogo.

Gracias a la Universidad del Magdalena que con su apoyo académico y financiero se pudo llevar a cabo este estudio.

Finalmente doy gracias a todos mis amigos por su apoyo moral durante el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres, Yenis Polo De La Rosa y Luis Alejandro Benitez Támara, que por su constante apoyo, esfuerzo, educación y amor han hecho que otro triunfo más sea posible. A mi familia Polo De La Rosa por estar siempre al pendiente y finalmente a mi hermano Havid, que desde donde se encuentre siempre ha sido mi guardián en este globo llamado Tierra.

Resumen

El vertimiento accidental y crónico de polvillo de carbón mineral al mar es común en zonas costeras donde se llevan a cabo los procesos de almacenamiento y transporte a nivel mundial y en Colombia, y es poco lo que se conoce sobre sus efectos en la biota marina y sobre los niveles que pueden ser perjudiciales para la misma. Los bivalvos están entre los organismos acuáticos centinela más usados en programas de contaminación marina, y el análisis de su balance energético es considerado una buena aproximación para diagnosticar su estado de salud y calidad ambiental. En el presente estudio se evaluaron los efectos de diferentes concentraciones de polvillo de carbón mineral sobre la fisiología energética del bivalvo *Argopecten nucleus* bajo condiciones de laboratorio. Para ello, especímenes adultos de *A. nucleus* producidos en laboratorio fueron expuestos a distintas concentraciones de carbón mineral particulado (0, 5, 10 y 40 mg L⁻¹), bajo condiciones constantes de temperatura (25 °C), salinidad (36‰), porcentaje de saturación de oxígeno (97 ± 6) y concentración de alimento (3,5 x 10⁴ células mL⁻¹ de *Isochrysis galbana*). Cada tratamiento se proporcionó durante un período de 10 horas, en las que se midieron variables fisiológicas asociadas a la adquisición de energía (tasas de filtración TF, producción de pseudoheces TS, ingestión TI, absorción TA, y eficiencia de absorción AE), salidas de la misma (tasas de consumo de oxígeno TCO y, excreción de amonio TE) y el balance entre estas dos (crecimiento potencial o SFG). La exposición de *A. nucleus* a concentraciones crecientes de polvillo de carbón mineral en la columna de agua causaron un aumento en TF, TS, TI y TA y un decrecimiento en TCO, TE y en el SFG, mientras que la AE no presentó variación alguna. Estos resultados sugieren que el aumento agudo en la concentración de polvillo de carbón mineral en el agua ocasiona una disminución en la disponibilidad de energía de los bivalvos para crecer y reproducirse, indicando con ello un aumento en los niveles de estrés.

Palabras claves: Crecimiento potencial, respuestas bioenergéticas, pectínido, contaminación marina, combustible fósil.

Abstract

The accidental shedding and chronic of coal dust to the sea is common in coastal areas where storage and transport processes are carried out worldwide and in Colombia, with little known about its effects on marine biota and on the values that can be harmful to it. The bivalves are among the aquatic sentinel organisms most used in marine pollution programs, and the analysis of their energy balance is considered a good approach to diagnose their health status and environmental quality. In the present study the effects of different concentrations of coal dust on the energy physiology of the bivalve *Argopecten nucleus* were evaluated under laboratory conditions. For this, adult specimens of *A. nucleus* produced in the laboratory were exposed to different concentrations of particulate mineral coal (0, 5, 10 and 40 mg L⁻¹), under constant conditions of temperature (25 °C), salinity (36 ‰), percentage of oxygen saturation (97 ± 6) and food concentration (3,5 x 10⁴ cells mL⁻¹ of *Isochrysis galbana*). Each treatment was provided over a period of 10 hours, in which physiological variables associated with the acquisition of energy (filtration rates FR, pseudofaeces production PR, Ingestion IR, absorption AR, and absorption efficiency AE) were measured. The same (oxygen consumption rates OCR and ammonia excretion ER) and the balance between these two (scope for growth SFG). The exposure of *A. nucleus* to increasing concentrations of mineral coal dust in the water column caused an increase in FR, PR, IR and AR; and a decrease in OCR, ER and in the SFG, while the AE did not present any variation. These results suggest that the sharp increase in the concentration of coal dust in the water causes a decrease in the energy availability of the bivalves to grow and reproduce, indicating an increase in stress levels.

Keywords: Scope for growth, bioenergetic responses, scallops, marine pollution, fossil fuel.

1. INTRODUCCIÓN

El carbón mineral es uno de los combustibles fósiles más usados a nivel mundial (Ahrens y Morrissey, 2005; UPME, 2012; IEA, 2016). Colombia ocupa el cuarto lugar en las exportaciones de carbón mineral a nivel mundial con un aporte de 82,0 millones de toneladas (Mt) para el año 2015 (IEA, 2016), y el primer puesto en reservas de carbón de excelente calidad en América Latina (UPME, 2012). Estas exportaciones son llevadas a cabo por vía marítima principalmente en los departamentos de La Guajira y Magdalena, luego de haber sido triturado para facilitar su transporte (UPME, 2012). En estas zonas, se llevan a cabo las etapas de almacenamiento y cargue de embarcaciones ya sea directo, usando cintas transportadoras, o indirecto, mediante el llenado y vaciado de barcas movidas por remolcadores. Todas estas operaciones generan el vertido crónico de carbón al ecosistema marino, ya sea por causas naturales como las lluvias y vientos, o accidentales como el hundimiento de barcas (Olivero *et al.*, 2013). Solo a lo largo de la línea costera del departamento del Magdalena, se ha reportado el vertimiento de aproximadamente 4.555 toneladas de este combustible fósil al lecho marino (Invemar, 2002; Franco-Herrera *et al.*, 2011; UJTL, 2013; Drummond Ltd., 2016).

Se considera que la mayor parte de las partículas de carbón mineral que se vierte al mar en eventos de derrame accidental tiene un tamaño mayor de 1 mm, por lo que se deposita en el fondo de los alrededores de las terminales carboníferas o de los barcos, en donde estos tienen lugar (Johnson y Bustin, 2006; Jaffrennou *et al.*, 2007a). Sin embargo, hay una fracción variable que es el polvillo de carbón o carbón mineral particulado (CMP), el cual dado su pequeño tamaño de partícula ($\leq 53 \mu\text{m}$), permanece en suspensión en la columna de agua y tiene una amplia dispersión lateral (4 - 96 km desde el punto de descarga) por la acción de las corrientes marinas (Johnson y Bustin, 2006). Este componente, es vertido al mar adicionalmente de forma crónica por la acción del viento y escorrentías de agua lluvia (Olivero *et al.*, 2013).

A nivel mundial existen varios estudios donde se han reportado numerosas afectaciones del polvillo de carbón para los ecosistemas y organismos marinos entre las cuales es posible mencionar: 1) Aumento de la turbidez y disminución de la luz espectral (Jones y Ellis, 1975; Ahrens y Morrissey, 2005; Jaffrennou *et al.*, 2007a) que causa una disminución en el rendimiento fotosintético, crecimiento y/o supervivencia de productores primarios como macroalgas (Hyslop y Davies, 1998), pastos marinos (Berry *et al.*, 2016a), manglares (Naidoo y Chirkoot, 2004; Naidoo y Naidoo, 2005) y microalgas asociadas a corales (Berry *et al.*, 2016a); 2) Disminución en la concentración de oxígeno en el bentos, debido a la oxidación del material orgánico del mineral (12-77%) y/o a la disminución de la producción primaria, generando alteración en la red trófica marina (Johnson y Bustin, 2006); 3) Aumento en la cantidad de material particulado en suspensión y depositado que

produce una reducción del asentamiento larvario de invertebrados bentónicos (Berry *et al.*, 2016b), abrasión de tejidos externos de la flora marina (Hyslop y Davies, 1998), obstrucción física de las superficies de intercambio respiratorio de los animales de respiración acuática (Pearce y McBride, 1977; Hillaby, 1981; Berry *et al.*, 2016a); y reducción en los porcentajes de fertilización, desarrollo embrionario y supervivencia de corales (Berry *et al.*, 2016b); 4) Liberación de sustancias tóxicas del carbón mineral tales como ácidos de azufres (Invemar, 2001), ácidos húmicos (Jaffrennou *et al.*, 2007a), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales/metaloideos traza (Siboni *et al.*, 2004; Ahrens y Morrissey, 2005; Olivero *et al.*, 2013; Caballero-Gallardo *et al.*, 2015; Berry *et al.*, 2016a). Estos componentes pueden ser bioacumulados por ingestión de CMP en la red trófica marina ocasionando la magnificación de su toxicidad, como se ha comprobado en moluscos (Shaw y Wiggs, 1980; Siboni *et al.*, 2004) y peces (Campbel y Devlin, 1997).

Pese a que se conocen los efectos negativos sobre la salud de los ecosistemas y los seres vivos marinos, no hay un consenso con relación a las concentraciones o tiempos de exposición en los cuales el polvillo de carbón suspendido empieza a representar una amenaza sobre el ecosistema marino (Berry *et al.*, 2016a). Asimismo, no existen actualmente legislaciones ambientales sobre los límites máximos permisibles (LMP) del CMP en ambientes acuáticos. El estudio de estos aspectos puede permitir establecer una base científica para la creación de políticas y tecnologías que permitan controlar y mitigar el vertimiento de carbón mineral al medio marino, a fin de evitar la contaminación y el daño en la salud de los ecosistemas marinos.

Los moluscos bivalvos epibentónicos, han sido utilizados como indicadores biológicos de contaminación ambiental en ecosistemas marinos por ser organismos poco móviles, con distribución cosmopolita, capacidad de filtrar partículas en suspensión y bioacumular compuestos contaminantes (Viarengo y Canesi, 1991; Widdows *et al.*, 1995; Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 2007; Weng y Wang, 2014). Su tolerancia, adaptabilidad y sensibilidad de sus variables fisiológicas los han posicionado como organismos centinela en programas de monitoreo de polución e indicadores de la calidad ambiental de los ecosistemas (Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 2007).

El estudio de la fisiología energética proporciona información sobre los procesos fundamentales implicados en la adquisición, gasto y pérdidas de energía de un organismo, así como de su balance energético o crecimiento potencial (SFG), el cual representa la cantidad de energía que tiene disponible para crecer y reproducirse (Bayne y Newell, 1983; Widdows y Donkin, 1991; Widdows *et al.*, 1995; Toro-Restrepo, 2011). El SFG ha sido considerado uno de los índices fisiológicos más sensibles al estrés inducido por la contaminación (Widdows *et al.*, 1995). Asimismo, es de gran utilidad ya que además de ser considerado un buen predictor de la tasa de crecimiento y un indicador del estado de condición y del “fitness” de un organismo (Widdows, 1985); requiere de un bajo número de ejemplares (entre 4 y 8 individuos) y un tiempo de medición

relativamente corto (2 a 6 horas) para obtener resultados sobre el estado de la condición fisiológica de una población (Grant y Cranford, 1991).

Aunque se han documentado muy bien las respuestas a corto plazo de las variables asociadas a la fisiología energética de bivalvos frente al aumento de la concentración de partículas suspendidas en la columna de agua tales como microalgas (Bacon *et al.*, 1998; Velasco, 2006; Chávez-Villalba *et al.*, 2013), sedimento (Navarro *et al.*, 1992; Velasco y Navarro, 2005) y microalgas más sedimento (Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; Velasco y Navarro, 2003; Velasco y Navarro, 2005; Kang *et al.*, 2016; Navarro *et al.*, 2016). Se desconoce el efecto que pueda tener el carbón mineral sobre los mismos a corto y mediano plazo (horas y días, respectivamente) teniendo unas características muy peculiares y diferentes al sedimento tales como un alto componente de materia orgánica (Keating, 2001; Ahrens y Morrissey, 2005; UPME, 2012; Olivero *et al.*, 2013), biomoléculas complejas de valor alimentario cambiante (proteínas, lípidos y carbohidratos); además del potencial de liberación de sustancias tóxicas (Olivero *et al.*, 2013).

Argopecten nucleus es un bivalvo del mar Caribe que resulta ideal para ser usado como bioindicador en la región. Además de cumplir con las características antes mencionadas, es una especie cuya tecnología de producción de juveniles en laboratorio y cultivo en el mar ha sido desarrollada (Velasco y Barros, 2007; Velasco *et al.*, 2007; Velasco, 2008; Velasco y Barros, 2008; Velasco y Barros, 2009; Gómez-León *et al.*, 2010; Acosta y Gómez-León, 2013), por lo que pueden obtenerse numerosos ejemplares con los cuales es posible ejecutar experimentos y se conoce muy bien su fisiología energética y las condiciones óptimas para su mantenimiento (Velasco, 2006; 2007; Velasco *et al.*, 2016). Debido a esto, ya ha sido usada exitosamente para estudiar la toxicidad aguda y crónica de lodos de perforación petrolera (Rodríguez-Satizábal *et al.*, 2015).

Considerando todo lo anterior, en el presente estudio se buscó responder a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el efecto del aumento en la concentración del polvillo de carbón mineral en el agua sobre la fisiología energética del pectínido *Argopecten nucleus* bajo condiciones de laboratorio?

2. HIPÓTESIS

- La exposición de *A. nucleus* a concentraciones crecientes de polvillo de carbón mineral en el agua origina un aumento en las tasas de filtración, producción de pseudoheces, ingestión y absorción hasta cierta concentración, tras la cual estas variables decrecen.
- La exposición de *A. nucleus* a un aumento en la concentración de polvillo de carbón ocasiona un aumento en las tasas de consumo de oxígeno y de excreción de amonio.
- El aumento en la concentración de polvillo de carbón en el agua causa una disminución en el SFG de *A. nucleus*.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar los efectos de tres concentraciones de polvillo de carbón mineral en el agua sobre la fisiología energética del bivalvo *Argopecten nucleus* bajo condiciones de laboratorio.

3.2. Objetivos específicos

- Establecer el efecto de tres concentraciones de polvillo de carbón en el agua sobre las variables asociadas a la adquisición de energía de *A. nucleus* (tasas de filtración, producción de pseudoheces, tasa de ingestión, tasa de absorción y eficiencia de absorción).
- Determinar la respuesta de las variables relacionadas con las salidas energéticas de *A. nucleus* (tasa de consumo de oxígeno y de excreción de amonio) en presencia de tres concentraciones de polvillo de carbón en el agua.
- Estimar el balance entre las entradas y salidas energéticas y el crecimiento potencial de *A. nucleus* expuesto a tres concentraciones de polvillo de carbón.

4. METODOLOGIA

4.1. Área de estudio

Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Planta Piloto Pesquera de Taganga (PPPT) de la Universidad del Magdalena, situada en el Corregimiento de Taganga (Lat. 11°16'03" N, Long. 74°11'24" W). La recolecta de los organismos que se usaron para los experimentos, fueron producidos en el laboratorio antes mencionado y cultivados en la concesión marina de la Universidad del Magdalena en la Bahía de Taganga (Lat. 11°16'04" N, Long. 74°11'36" W, Figura 1). El mar en esta zona presenta temperaturas entre 24,0 y 29,0 °C, salinidades entre 35 y 37 ‰, concentraciones de seston entre 0,29 y 9,0 mg L⁻¹; con un porcentaje orgánico de 11 y 67 % (Velasco y Barros, 2009; Velasco *et al.*, 2009; Velasco y Barros, 2010).



Figura 1. Ubicación geográfica de la Bahía de Taganga. Fuente: Google Earth, Digital Globe, 2017.

4.2. Obtención y mantenimiento de especímenes

Un total de 50 especímenes adultos de *A. nucleus* (longitud ≈40 mm), fueron transportados en húmedo dentro de neveras plásticas desde la concesión marina al laboratorio; donde fueron limpiados de epibiontes y marcados individualmente. Allí se mantuvieron durante una semana en canaletas rectangulares (250 L) surtidas con agua de mar microfiltrada (1 µm), tratada con UV, aireada, con temperatura de 25 °C y 36 ‰ de salinidad. Asimismo, se suministró alimento por goteo ($2,3 \times 10^8$ células h⁻¹ animal⁻¹) de la microalga *Isochrysis galbana*; con el fin de mantener una concentración constante de $3,5 \times 10^4$ mL⁻¹. Teniendo en cuenta que la tasa de aclaramiento a esta concentración de microalgas es de 5,8 L h⁻¹ (Velasco 2006; 2007). Diariamente, se realizó limpieza de fondo mediante sifoneo y se recambió el agua en un 80% (Figura 2).

La microalga *I. galbana* suministradas ($3 - 6 \mu\text{m}$) usadas como alimento provinieron de monocultivos en batch mantenidos en el medio F/2 de Guillard (1974) en la Colección de Microalgas Marinas de la Universidad del Magdalena UMC-MA (registro 205 del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt).



Figura 2. Limpieza, medición, pesaje y mantenimiento de animales.

4.4. Diseño experimental

Se probaron tres concentraciones de CMP ($5, 10$ y 41 mg L^{-1}), teniendo un control sin suministro del polvillo de carbón. En cada tratamiento se utilizaron 7 individuos (elegidos al azar) colocados individualmente en cámaras acrílicas rectangulares ($0,8 \text{ L}$). También se tuvo una cámara control con un par de valvas vacías a fin de corregir el efecto de la retención y/o sedimentación de las partículas dentro de las cámaras. Estas cámaras mantuvieron un sistema de flujo continuo (150 mL min^{-1}) de la dieta compuesta por agua con microalgas *Isochrysis galbana* ($3,5 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$) y las diferentes concentraciones de CMP (Figura 4). Esta dieta se suministró a condiciones constantes de temperatura ($25 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$), salinidad ($36 \pm 1\text{‰}$) y saturación de oxígeno (97 ± 6). Los organismos estuvieron expuestos a los tratamientos durante un período de 12 horas, las 10 primeras horas para aclimatación a las condiciones experimentales y medición de las variables alimentarias, y 2 horas para la medición de las variables de consumo de oxígeno y excreción de amonio.



Figura 3. Montaje de los experimentos para la determinación de las variables fisiológicas.

4.3. Preparación de las dietas con carbón

El carbón mineral particulado se elaboró a partir del molido de una muestra de carbón mineral de tipo bituminoso y el cual fue tamizado con agua de mar microfiltrada a través de un tamíz de 40 μm hasta obtenerse partículas con tamaños entre (1 y 36 μm). La solución stock de carbón se almacenó en un recipiente hermético dentro de un congelador ($-24\text{ }^{\circ}\text{C}$), hasta su uso en los experimentos para evitar el crecimiento de microorganismos.

Las dietas con microalgas y carbón que se usaron en los tratamientos se prepararon mezclando volúmenes apropiados de microalgas y la solución stock de carbón particulado y agua de mar microfiltrada. El volumen del cultivo de microalgas a utilizar se determinó mediante el cálculo de la densidad de células en el cultivo a partir de tres muestras (1 mL) contadas bajo un microscopio dentro de una cámara Neubauer de 0,1 mm de profundidad. Mientras que el volumen de solución stock requerido para los diferentes tratamientos se calculó a partir de la determinación del peso seco de CMP mL^{-1} presente en la solución stock siguiendo la metodología gravimétrica de Strickland y Parsons (1972). Para ello, se tomaron 3 muestras (30 mL) y se filtraron a través de una bomba de vacío sobre filtros de fibra de vidrio millipore ($\phi = 1\text{ }\mu\text{m}$), previamente lavados con agua destilada, quemados ($450^{\circ}\text{C} \times 3\text{ h}$) y pesados. Los filtros con el material filtrado se pesaron luego de ser lavados con formiato de amonio isotónico (para eliminar las sales) y secados a 70°C durante 24 h. Finalmente la diferencia de peso se dividió entre el volumen de la muestra.

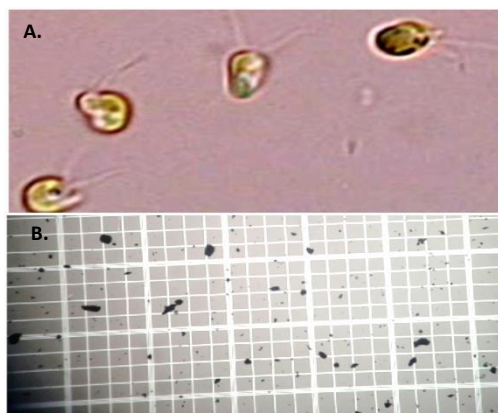


Figura 4. A. Microalga *I. galbana*, **B.** Partículas de carbón mineral bituminoso.

4.5. Caracterización de la dieta

Cada 4 horas a lo largo del experimento se tomó una muestra del agua que fluía a través de la cámara control para caracterizar la dieta con carbón suministrada en cuanto a su concentración total (MTP: mg L^{-1}) mediante el método gravimétrico de Strickland y Parsons (1972). En el cual, el material orgánico particulado (MOP: mg L^{-1}), se calculó como la pérdida de peso luego de incinerar los filtros a 450°C por 3h (Figura 5).

$$\text{MOP} = (\text{Wb } 70^{\circ}\text{C} - \text{Wb } 450^{\circ}\text{C})$$

$$\text{MTP} = (\text{Wb } 70^{\circ}\text{C} - \text{Wb})$$

Dónde: MTP= material total particulado (mg L^{-1}); MOP = material orgánico particulado (mg L^{-1}); Wb= peso inicial del filtro; Wb 70°C = es el peso del filtro luego de ser secado a 70°C ; Wb 450°C = es el peso de los filtros luego de ser quemados a 450°C .



Figura 5. Filtrado de las muestras de las dietas suministradas.

4.6. Determinación de variables fisiológicas

4.6.1. Tasas de adquisición energética

Las determinaciones fisiológicas para las variables de alimentación se realizaron siguiendo el método de biodeposición descrito por Iglesias *et al.* (1998).

4.6.1.1. Tasa de filtración (TF)

Es la cantidad de material particulado removido del agua por unidad de tiempo (Widdows, 1985a).

$$TFT = TFI + TFO$$

$$TFI = TSI + THI$$

$$TFO = TFI * (MOP / MIP)$$

Donde: TFT= tasa de filtración total; TFI= tasa de filtración inorgánica (mg h^{-1}); TFO= tasa de filtración orgánica (mg h^{-1}); TSI= tasa de producción de pseudoheces inorgánicas (mg h^{-1}); THI= tasa de producción de heces inorgánicas (mg h^{-1}); MOP= material orgánico particulado (mg L^{-1}); MIP= material inorgánico particulado (mg L^{-1}).

4.6.1.2. Tasa de producción de pseudoheces (TS)

La producción de pseudoheces, es la cantidad de material filtrado, pero no ingerido sino que es eliminado al exterior por el sifón inhalante y/o por la apertura del pie.

Una vez finalizada la etapa de aclimatación a las condiciones experimentales, se retiró de cada cámara las heces, pseudoheces y/o el CMP sedimentado en el periodo de aclimatación (10 h). Luego de las 2 horas siguientes se extrajeron los animales y se colectó la totalidad de estos materiales depositados en cada cámara con ayuda de una manguera y se separó de acuerdo a su forma y densidad. La cantidad de pseudoheces producidas por cada individuo, así como el contenido orgánico de éstas, fueron evaluados utilizando la metodología gravimétrica arriba descrita para la caracterización del alimento. La producción de pseudoheces totales y orgánicas por individuo fueron calculadas dividiendo el total los biodepósitos por la duración de cada experimento.

$$TST = TSI + TSO$$

Donde: TST= tasa de producción de pseudoheces total; TSI= tasa de producción de pseudoheces inorgánicas (mg h^{-1}); TSO= tasa de producción de pseudoheces orgánica (mg h^{-1}).



Figura 6. Separación y colecta de biodepositos (heces y pseudoheces).

4.6.1.3. Tasa de ingestión (TI)

Es la cantidad de material particulado consumido por unidad de tiempo (Widdows, 1985a).

$$TIT = TFT - TST$$

$$TIO = TFO - TSO$$

Donde: TIT= tasa de ingestión total; TIO = Tasa de ingestión orgánica, o material ingerido por unidad de tiempo (mg h^{-1}); TFO = tasa de filtración orgánica (mg h^{-1}); TFT= tasa de filtración total (mg h^{-1}); TSO = tasa de producción de pseudoheces orgánica (mg h^{-1}); TST = tasa de producción de pseudoheces total (mg h^{-1}).

4.6.1.4. Tasa de absorción (TA)

Representa el material ingerido que es absorbido por unidad de tiempo (Bayne *et al.*, 1993).

$$TA (\text{mg h}^{-1}) = TIO - THO$$

Donde: TIO = Tasa de ingestión orgánica (mg h^{-1}), THO = tasa de producción de heces orgánicas (mg h^{-1}).

4.6.1.5. Eficiencia de absorción (AE)

Es el rendimiento con el cual la materia orgánica del alimento ingerido es absorbida a través del sistema digestivo (Widdows, 1985); y es medido por el método de Conover (1966), el cual estima la absorción neta y asume que el componente inorgánico del alimento no es absorbido.

$$EA (\%) = (TA/TIO) * 100$$

4.6.2. Tasas de salidas energéticas

4.6.2.1. Tasa consumo de oxígeno (TCO)

Para determinar la concentración de oxígeno se empleó el método de Winkler modificado por Carritt y Carpenter (Strickland y Parsons, 1972). Las muestras de agua de cada cámara se depositaron en botellas BOD mediante una manguera evitando producir burbujas o turbulencia (Figura 7). Seguidamente, se fijaron las muestras mediante la adición de una solución de sulfato manganoso (1 mL); y otra de ioduro alcalino (1 mL). El precipitado formado se disolvió con ácido sulfúrico concentrado (2 mL), y con la debida agitación de las botellas. Posteriormente, se extrajeron alícuotas de 50 mL de cada botella las cuales fueron tituladas con una solución de tiosulfato de sodio 0,01 N hasta que adquirieron un color amarillo pálido. En este punto se añadió una solución de almidón al 0,1 % p/v (5 ml), y continuamente se tituló hasta que se tornó incoloros. Cada vez que se usó un reactivo nuevo se hicieron titulaciones de los blancos (agua destilada y reactivos agregados en orden inverso), y de estos más iodato para poder determinar los factores de corrección. Las concentraciones de oxígeno fueron determinadas mediante la siguiente formula:

$$ml\ O_2/L = 11,2 * ((Y/(Y-2)) * 5/X * F * (V - b))$$

Donde: 11,2 = factor de conversión de mg a ml de O₂; Y = volumen (mL), de la botella de BOD; X = volumen (mL), de la alícuota titulada; 2 = volumen (mL), de muestra desplazado por los reactivos de fijación; F = factor de corrección; V = volumen de tiosulfato (mL), gastado en la titulación y b = volumen de tiosulfato (mL), gastado en la titulación del blanco.

4.6.2.2. Tasa de excreción (TE)

Se refiere a la producción de deshechos nitrogenados producto del catabolismo de las proteínas (Widdows, 1985b); ya que el amonio-nitrógeno (NH₄ -N), es el principal producto de excreción de los moluscos (Bayne y Scullard, 1977), para la determinación de éste se aplicó el método colorimétrico descrito por Solorzano (1969). A cada una de las muestras de agua (5 mL) de las cámaras experimentales se agregaron soluciones de fenol (0,2 mL: 10 g de fenol + 100 mL de

metanol), de nitroprusiato de sodio (0,2 mL: al 0,5%), y oxidante (0,5 mL: hipoclorito de sodio + solución alcalina). Las muestras se mantuvieron a oscuras por un período mayor a 2 horas y menor a 24 horas para posterior lectura de sus absorbancias a 640 nm, mediante un espectrofotómetro. Cada vez que se preparó un reactivo nuevo, se calibró una curva de concentración de amonio empleando los mismos reactivos y procedimientos antes mencionados para las muestras. Las concentraciones de las muestras se despejaron de la ecuación de regresión a obtener con la curva de calibración y las tasas de excreción (NH₄ -N excretado), se determinaron según lo descrito por Widdows (1985b); a través de la siguiente ecuación:

$$\text{NH}_4\text{-N excretado } (\mu\text{g h}^{-1}) = (28 * x * 0,82) / t$$

Donde x= Diferencia entre la concentración de NH₄ -N ($\mu\text{M L}^{-1}$), de cada cámara con animal menos la de la cámara control, 28= factor de conversión ($\mu\text{g}/\mu\text{M}$), 0,82= volumen de las cámaras (L) y t= tiempo de incubación (h). Para evitar la contaminación de los sistemas de distribución de las dietas y del material de vidrio empleado en las estimaciones correspondientes, estos se lavaron con una solución de HCl diluido al 25 % previo a cada tratamiento experimental.

4.6.3. Estandarización y transformación de tasas fisiológicas

Una vez finalizados los experimentos, se procedió con la disección de los bivalvos y sus tejidos blandos fueron secados a temperaturas de 70 °C durante 48 h, obteniendo su peso seco constante; para posterior pesaje individual. Así mismo, se llevaron a cabo una estandarización de la tasa de consumo de oxígeno y producción de amonio medidas para un gramo de peso seco del animal y para el estado de madurez, utilizando las siguientes fórmulas empleada por Bayne *et al.* (1987):

$$Y_{ts} = (1 / W_e)^{b_1} \times Y_e$$

$$Y_{ms} = (1 / E)^{b_2} \times Y_{ts}$$

Donde Y_{ts} = tasa estandarizada, Y_e = tasa no estandarizada, W_e = peso del animal experimental, b₁ = dependencia de las tasas fisiológicas al tamaño de los animales, Y_{ms} = tasa del animal estado de madurez estándar, E = estado de madurez del animal experimental (entre 1 y 4) y b₂ = dependencia de las tasas fisiológicas al estado de madurez de los animales. Los valores de “b” que se emplearon para cada tasa fisiológica, será b₁ y b₂ descritos y estimados en Velasco (2006; 2007), a partir de regresiones exponenciales entre las mediciones fisiológicas, el peso seco y el estado de madurez de los individuos de diferentes tamaños y grados de madurez de *A. nucleus*. Para las tasas de producción de biodepositos b₁= 0,98 y b₂= -0,67; para la tasa consumo de oxígeno b₁= 1,52 y b₂= 0,32; y finalmente, para la tasa de excreción de amonio b₁= 1,16 y b₂= 0,11.

4.6.4. Balance energético

4.6.4.1. Crecimiento potencial (SFG)

Representa la cantidad de energía que un organismo tiene disponible para crecer y reproducirse (Warren y Davis, 1967). Ésta, se estimó a partir de la ecuación del balance energético de Widdows (1985b); como la diferencia entre la energía absorbida (TA), y los gastos metabólicos (TCO), y de excreción (TE).

$$\text{SFG (J h}^{-1}\text{)} = \text{TA} - (\text{TCO} + \text{TE})$$

Donde TA = tasa de absorción (J h⁻¹), TCO =, tasa de consumo de oxígeno (J h⁻¹) y TE = tasa de excreción (J h⁻¹). Las tasas de absorción, consumo de oxígeno y excreción de amonio fueron transformadas a Joules multiplicándolas por cada uno de los siguientes coeficientes: 11,40 J 1 mg⁻¹ de *Isochrysis galbana* (Velasco, 2007), 20,08 J mL⁻¹ de O₂ (Gnaiger, 1983), y 24,8 J mg⁻¹ de NH₄ - N (Elliot y Davinson, 1975).

4.7. Análisis estadísticos

Para examinar la existencia de relaciones lineales significativas entre la concentración de polvillo de carbón mineral y las diferentes variables fisiológicas medidas se emplearon análisis de regresión lineal. Previo a estos análisis se verificó el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de las variables fisiológicas. Así mismo, se realizaron análisis de correlación de Spearman entre las variables fisiológicas para establecer el grado de asociación entre ellas.

Para todas las decisiones de significancia se utilizó un α de 0,05, mientras que la selección de la regresión de mayor ajuste para cada variable se fundamentó en los mayores valores del coeficiente de determinación R². Los análisis estadísticos se ejecutaron con el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterización de la dieta

El porcentaje del contenido orgánico de los tratamientos fluctuó entre 74,0 y 86,1% (Tabla 1), siendo el tratamiento de 10 mg L⁻¹ el que obtuvo el valor más alto y el de 5 mg L⁻¹, el que presentó el valor más bajo. En cuanto al contenido calórico, este fluctuó entre 11,4 y 0,20 J mg⁻¹, presentando los mayores valores el tratamiento de 0 mg L⁻¹ (contenido solo de microalga *I. galbana*) y los menores el tratamiento de 40 mg L⁻¹.

Tabla 1. Caracterización de la dieta de *Argopecten nucleus* compuesta de la microalga *I. galbana* y de carbón mineral particulado (CMP). Contenido de material orgánico (MOP) y contenido energético (E).

	MTP	CMP	MOP	E
Tratamiento	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(%)	(J mg ⁻¹)
0 mg L ⁻¹	0,7	0	85,7	11,4*
5 mg L ⁻¹	5,4	4,7	74,0	2,0
10 mg L ⁻¹	10,2	9,5	86,1	0,82
40 mg L ⁻¹	41,1	40,4	83,4	0,20

*Este valor fue tomado de Velasco, 2007.

5.2. Determinación de variables fisiológicas

5.2.1. Tasas de adquisición energéticas

5.2.1.1. Tasa de filtración

La tasa de filtración (TF) varió entre 23,4 y 704,6 mg h⁻¹g⁻¹ (Figura 8). Se halló una relación polinomial positiva y significativa entre TF y la concentración de carbón mineral particulado (CMP) en el agua ($R^2 = 0,9995$, $p = 0,0014$).

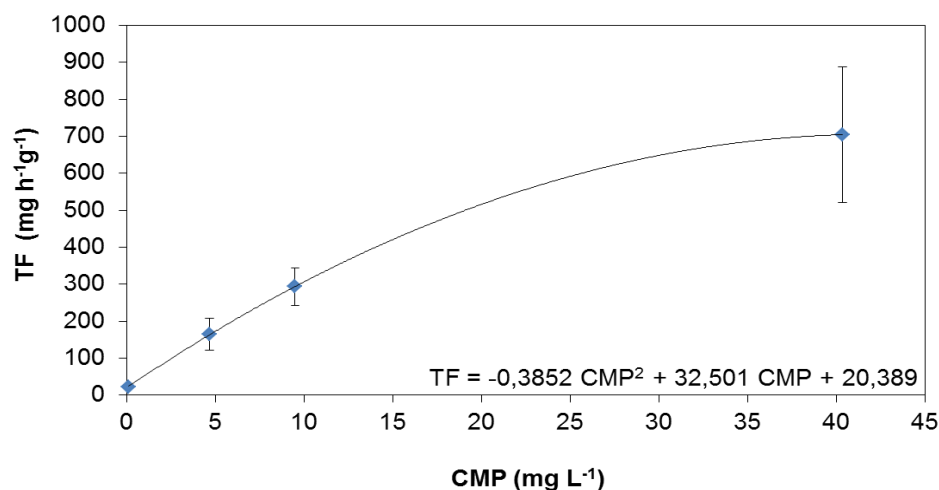


Figura 7. Tasa de filtración (TF) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.1.2. Tasa de producción de pseudoheces

La tasa de producción de pseudoheces (TS) osciló entre 88,9 y 453,4 mg h⁻¹g⁻¹ a valores de CMP entre 4,7 y 40,4 mg L⁻¹ (Figura 9). Se encontró una relación lineal positiva y significativa entre TS y la CMP ($R^2 = 0,9831$, $p = 0,0085$). Se verificó una correlación significativa entre TF y TS ($r = 0,8871$, $p = 0,0000$).

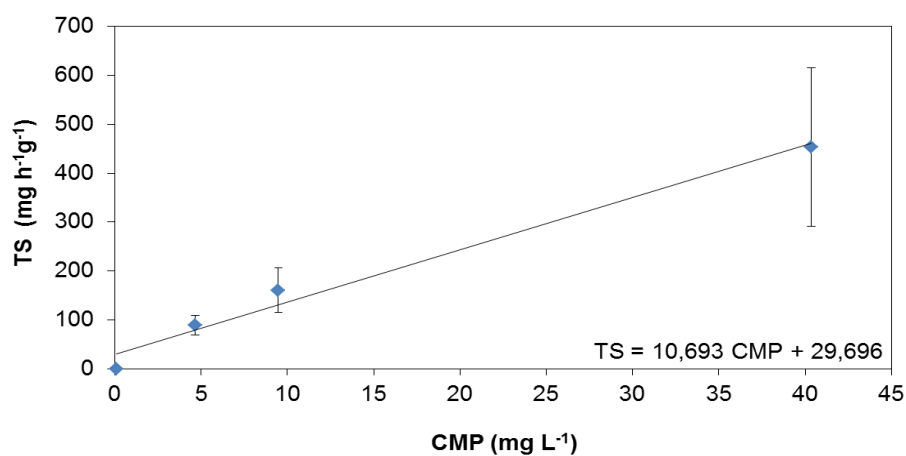


Figura 8. Tasa de producción de pseudoheces (TS) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

El contenido orgánico de pseudoheces (SO) osciló entre 63 y 64%, siendo significativamente menor que el contenido orgánico del alimento suministrado ($gl=1$, $F=10,54$, $p=0,0025$; Figura 10).

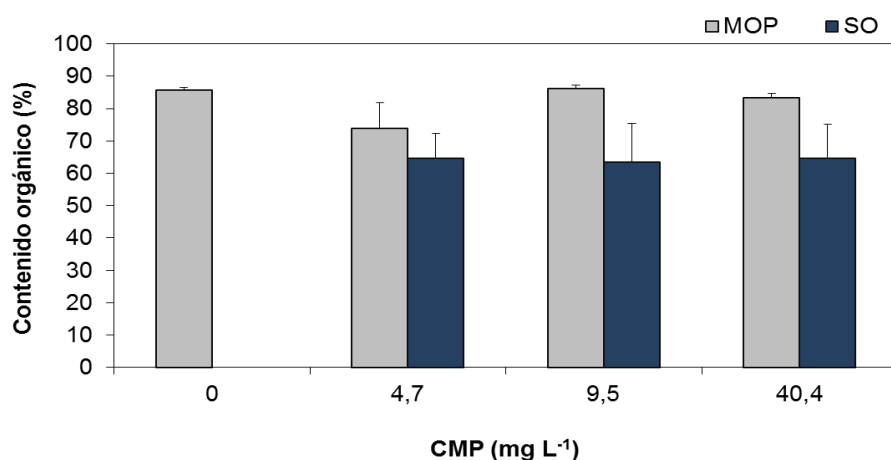


Figura 9. Relación entre el contenido orgánico del alimento (MOP) y de las pseudoheces (SO) producidas por *A. nucleus* en las diferentes concentraciones de carbón mineral particulado (CMP).

5.2.1.3. Tasa de ingestión

La tasa de ingestión (TI) varió entre 23,4 y 490,2 mg h⁻¹g⁻¹ (Figura 11). Se encontró una relación potencial positiva y significativa entre TI y la CMP ($R^2=0,9875$, $p=0,0063$). Así mismo se encontró una correlación significativa entre TI con TF y TS ($r>0,8409$, $p<0,0001$).

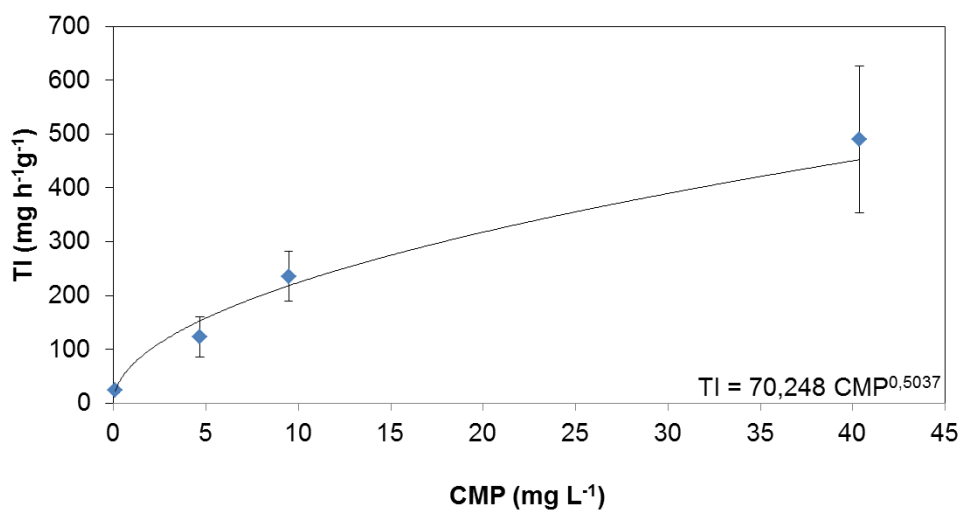


Figura 11. Tasa de ingestión (TI) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.1.4. Eficiencia de absorción

La eficiencia de absorción (EA) se mantuvo constante entre 93 y 94% (Figura 12). No se encontró relación alguna significativa entre esta variable y la CMP ($p > 0,0500$). No se halló ninguna correlación significativa entre EA con TI, TF ni TS ($r < 0,4000$, $p > 0,1486$).

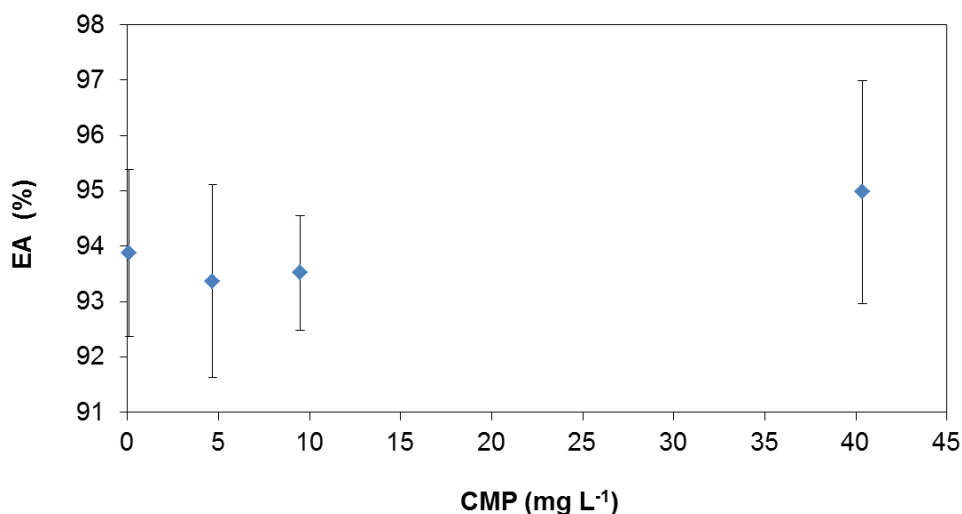


Figura 10. Eficiencia de absorción (EA) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.1.5. Tasa de absorción

La tasa de absorción (TA) osciló entre 19,0 y 415,1 mg h⁻¹g⁻¹ (Figura 13). Se encontró una relación potencial positiva y significativa entre TA y la concentración de polvillo de carbón suspendido ($R^2 = 0,9823$, $p = 0,0089$). Se verificó la correlación significativa entre TA con EA o TI ($r < 0,9923$, $p < 0,0028$).

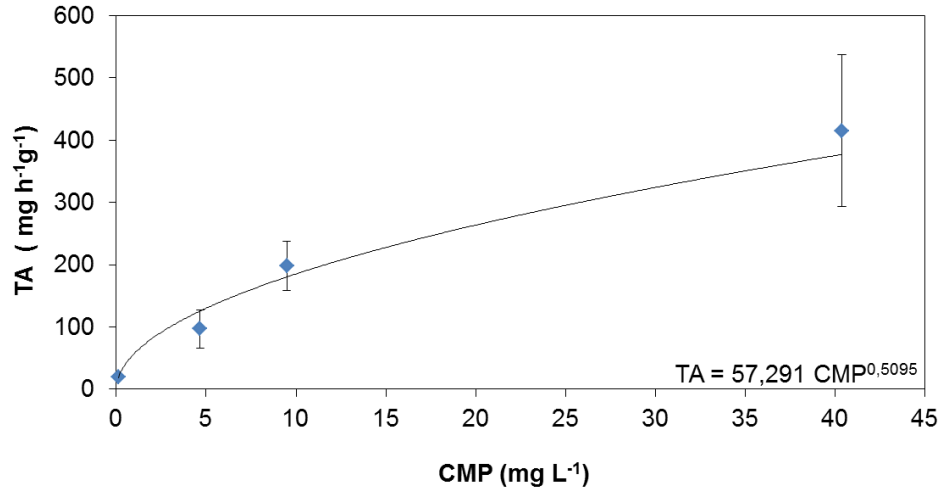


Figura 11. Tasa de absorción (TA) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.2. Tasas de salidas energéticas

5.2.2.1. Tasa consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno (TCO) varió entre 1,0 y 1,5 mL O₂ h⁻¹g⁻¹ (Figura 14). Esta variable disminuyó significativamente con el aumento en la concentración de CMP, presentándose una relación potencial negativa ($R^2 = 0,9317$, $p = 0,0347$). No se verificó ninguna correlación significativa entre TCO con TA y TS ($r < -0,2578$, $p > 0,0500$).

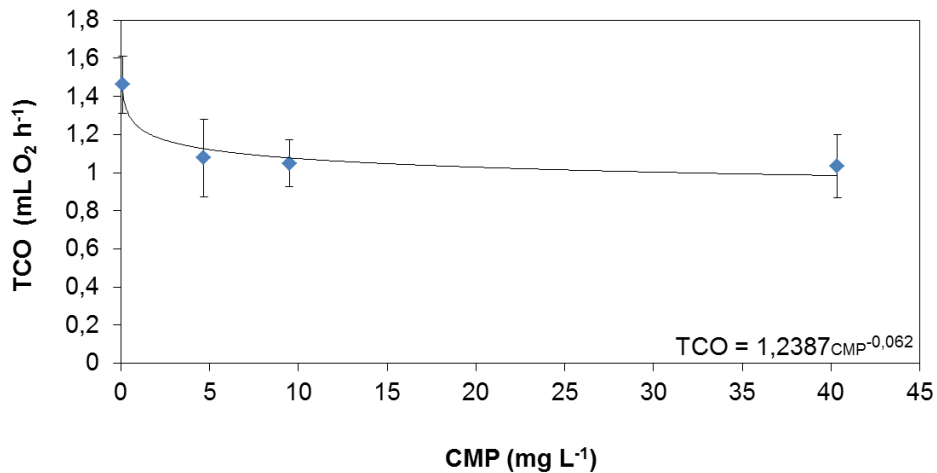


Figura 12. Tasa consumo de oxígeno (TCO) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.2.2. Tasa de excreción

La tasa de excreción de amonio (TE) estuvo entre 210,3 y 315,6 $\mu\text{g NH}_4\text{-N h}^{-1}$ (Figura 15). Se encontró una relación exponencial negativa y significativa entre TE y la concentración de partículas de carbón suspendidas ($R^2 = 0,9226$, $p = 0,0395$). Se halló una correlación significativa entre TE con TCO ($r = 0,7105$, $p = 0,0002$), excepto con TA ($r = -0,2660$, $p = 0,1669$).

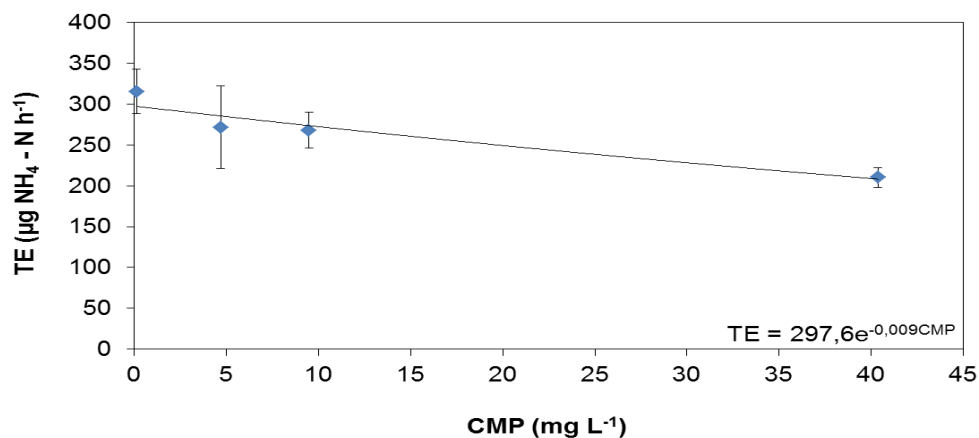


Figura 135. Tasa de excreción (TE) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

5.2.3. Balance energético

5.2.3.1. Crecimiento potencial

Los valores del crecimiento potencial (SFG) oscilaron entre 94,7 y 252,9 $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1}$ (Figura 16). Se encontró una relación exponencial negativa y significativa entre esta variable y la CMP ($R^2 = 0,995$, $p = 0,0025$). No se halló ninguna correlación significativa entre el SFG con TA, TCO y TE ($r < 0,5747$, $p > 0,0500$).

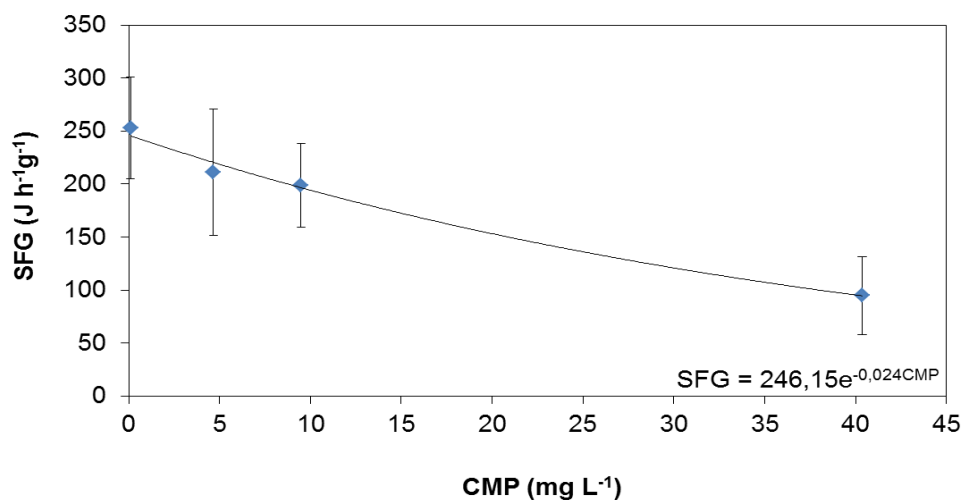


Figura 14. Crecimiento potencial (SFG) de *Argopecten nucleus* expuesto a diferentes concentraciones de carbón mineral particulado suspendido en la columna de agua (CMP).

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Tasas de adquisición energéticas

6.1.1. Tasa de filtración (TF)

El aumento en la TF de *A. nucleus* junto con el aumento de la concentración de CMP coincide con lo hallado en otros bivalvos cuando son expuestos a un aumento en la concentración de material particulado en el agua (Razet *et al.*, 1990; Iglesias *et al.*, 1992; Navarro *et al.*, 1992; Bayne *et al.*, 1993; Navarro *et al.*, 1994; Iglesias *et al.*, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005; Kang *et al.*, 2016). Esta respuesta es considerada como un mecanismo para aumentar las entradas de energía (Navarro y Widdows, 1997). Sin embargo, en estudios donde los bivalvos son expuestos a concentraciones de partículas muy altas (160 – 665 mg L⁻¹) la TF desciende, lo cual se ha atribuido a la saturación de partículas en las branquias que los obliga a hacer una reducción en el bombeo de agua (Beninger *et al.*, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005). Esta tendencia fue observada para esta misma especie alimentada con microalgas (*I. galbana*) a concentraciones de 12 mg L⁻¹ (Velasco, 2006). Aparentemente las microalgas ocasionan una saturación de las branquias desde bajas concentraciones debido a que estas por lo general ocupan una mayor área por unidad de peso en comparación con partículas como sedimento (Foster-Smith, 1975a). Por otro lado, se sabe que la eficiencia de retención de partículas en las branquias de los bivalvos es de alrededor del 100% para partículas mayores o iguales a 3 µm, disminuyendo cuando el tamaño de la partícula es menor a estos tamaños (Møhlenberg y Riisgard, 1978). Asimismo, se ha comprobado que el umbral de tamaño de partículas por encima del cual hay una eficiencia de retención de partículas del 100% aumenta junto con el aumento en la concentración de partículas (Palmer y Williams, 1980). Considerando que un 34% de las partículas de CMP suministrado tenía diámetros inferiores a 3 µm, es muy posible que estas hayan pasado a través de las branquias sin ser retenidas. La falta de respuesta de descenso de la TF de *A. nucleus* a altas concentraciones de CMP puede deberse a una baja eficiencia de retención de la importante fracción de partículas pequeñas del CMP, que ocasionó que no se presentara una saturación branquial.

6.1.2. Tasa de producción de pseudoheces (TS)

El aumento en la TS junto con la concentración de CMP es similar al reportado en esta especie alimentada con microalgas (Velasco, 2006) y en otros bivalvos frente a un aumento en la concentración de material particulado en suspensión (Razet *et al.*, 1990; Iglesias *et al.*, 1992; Navarro *et al.*, 1992; Bayne *et al.*, 1993; Navarro *et al.*, 1994; Iglesias *et al.*, 1996; Ward y MacDonald, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Bacon *et al.*, 1998; Velasco y Navarro, 2002; 2005). La producción de pseudoheces es considerada como un mecanismo para regular el exceso de

partículas filtradas y seleccionar aquellas de mayor valor nutritivo para ser ingeridas, aumentando su producción cuando se eleva la oferta de partículas en el medio y/o descende su calidad nutricional (Foster-Smith, 1975a; Navarro *et al.*, 1992; Iglesias *et al.*, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002). Aparentemente, por encima de 4,7 mg L⁻¹ de CMP, el sistema alimentario de *A. nucleus* se empieza a saturar haciendo que una gran parte del material retenido en las branquias sea rechazada al exterior sin ser ingerido.

El menor contenido orgánico de las partículas expulsadas como pseudoheces por *A. nucleus* en los diferentes tratamientos en comparación con el contenido orgánico de las partículas disponibles como alimento, demuestran un proceso de selección preingestiva, permitiéndoles rechazar preferencialmente aquellas partículas de menor calidad nutricional. Resultados similares han sido reportados en numerosos bivalvos (Iglesias *et al.*, 1992; Navarro *et al.*, 1992; 1994; Iglesias *et al.*, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005). Luego la producción de pseudoheces de menor contenido orgánico en *A. nucleus* expuesto a CMP representa una estrategia para mejorar la calidad de las partículas de alimento disponibles.

6.1.3. Tasa de ingestión (TI)

El aumento de la TI de *A. nucleus* junto con la creciente concentración de CMP ha sido observada en la misma especie expuesta a diferentes concentraciones de microalgas (Velasco, 2006), y en otros bivalvos sometidos a diferentes concentraciones de seston (Kiørboe *et al.*, 1980; Bayne *et al.*, 1993; Navarro *et al.*, 1994; Iglesias *et al.*, 1996; Ward y MacDonald, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005). El aumento de la TI corresponde con el mecanismo antes señalado en la TF para elevar la obtención de energía del alimento. Sin embargo, a altas concentraciones de partículas en el agua, la TI se mantiene constante o incluso descende (Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005; Velasco, 2006). Esta respuesta regulatoria se ha explicado como una forma de elevar la eficiencia de absorción de las partículas y ahorrar energía (Navarro *et al.*, 1992; 1994; Velasco y Navarro, 2002), dado que el volumen del sistema digestivo de los bivalvos y la velocidad a la que las enzimas pueden digerir los nutrientes impone unos límites a la cantidad de material que puede ser ingerido y procesado por unidad de tiempo (Widdows, 1985a; Bayne *et al.*, 1993). Las concentraciones de partículas a las cuales ocurre esta saturación del tracto alimentario varían con la calidad de las mismas y con la especie (12 - 250 mg L⁻¹; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2002; 2005). En *A. nucleus* alimentada con microalgas se verificó el descenso en la TI a concentraciones tan bajas como 12 mg L⁻¹ (Velasco, 2006). Los resultados sugieren que cuando *A. nucleus* ingiere CMP no se verifica una saturación de su sistema alimentario a concentraciones tan altas como 40 mg L⁻¹ posiblemente debido a que una importante proporción de estas partículas no fue retenida en las branquias generándose unos valores de TI sobrevalorados.

6.1.3. Eficiencia de absorción (EA)

Los altos valores de EA de *A. nucleus* (93 - 94%), así como su independencia respecto a la concentración de CMP, resultan similares a lo reportado en esta especie y en otros bivalvos expuestos a moderadas concentraciones de partículas suspendidas (MacDonald *et al.*, 1998; Bayne *et al.*, 1993; Velasco y Navarro, 2003; 2005; Velasco, 2006). Sin embargo, en estudios donde se prueban altas concentraciones de partículas (mayores a valores entre 12 – 160 mg L⁻¹) se ha reportado una disminución en la EA (Navarro *et al.*, 1994; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2003; 2005). Se ha demostrado que la EA aumenta junto con la disminución en la TI y con el aumento en la actividad de las enzimas digestivas, dado que aumentan el tiempo (Bayne *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1994) y eficiencia de digestión, respectivamente (Thompson y Bayne, 1972; Bayne *et al.*, 1987; Iglesias *et al.*, 1992; Bayne *et al.*, 1993). En el presente estudio, la falta de relación entre EA y TI indican que el menor tiempo de residencia del alimento en condiciones de alta concentración de CMP no afectó el proceso de digestión y absorción orgánica. Estos hechos pueden atribuirse al elevado contenido de materia orgánica del CMP (86%), lo cual se ha demostrado que incrementa la EA en esta especie y en otros bivalvos expuestos a microalgas y/o sedimento (Bayne *et al.*, 1987; Navarro y Widdows, 1997; Velasco, 2007). De otro lado, se ha demostrado que la exposición prolongada de mejillones a partículas de carbón mineral ocasiona daños celulares en las glándulas digestivas como la condensación de citoplasma, el desprendimiento y necrosis del tejido epitelial (Henley *et al.*, 2015). Los altos valores de la EA obtenidos en el presente estudio permiten inferir que este tipo de daños estructurales y funcionales no ocurrieron en *A. nucleus* sometidos a un corto periodo de exposición al CMP.

6.1.4. Tasa de absorción (TA)

El aumento de la TA de *A. nucleus* junto con el incremento de la concentración de CMP también ha sido descrito para esta especie alimentada con microalgas (Velasco, 2006) y para otros bivalvos alimentados con seston (Iglesias *et al.*, 1992, 1996; Navarro y Widdows, 1997; Velasco y Navarro, 2003; 2005). No obstante, en estos estudios se encuentra un descenso de esta tasa a altas concentraciones de partículas, el cual es explicado por el descenso en la TI. En *A. nucleus* este descenso se observó a una concentración de microalgas de 12 mg L⁻¹ (Velasco, 2006), mientras que en el presente estudio esto no ocurre a concentraciones tan altas como 40 mg L⁻¹, sugiriendo que el CMP absorbido es bioacumulado a velocidades tan altas como 415,1 mg h⁻¹g⁻¹.

El carbón colombiano contiene hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) dentro de los cuales se encuentra el pireno, fluoranteno y fenantreno (Jaffrennou *et al.*, 2007b); así como también metales

pesados (MP), encontrándose el plomo (Pb), mercurio (Hg), níquel (Ni), vanadio (V), berilio (Be), cadmio (Cd), bario (Ba), cromo (Cr), cobre (Cu), molibdeno (Mo), zinc (Zn), y selenio (Se) e isótopos radiactivos como el radio (Ra), uranio (U) y torio (Th) (Keating, 2001). Se ha demostrado que estos contaminantes son cancerígenos, mutagénicos y bioacumulables (Campbel y Devlin, 1997; Toro *et al.*, 2003; Olivero *et al.*, 2013; Caballero-Gallardo *et al.*, 2015). Considerando que el CMP resulta ser absorbido por *A. nucleus* a una velocidad creciente en relación a su concentración en el agua, esto indicaría que estos compuestos están siendo incorporados en los organismos a nivel extracelular o intracelular, dando inicio a un proceso de bioacumulación del cual se desconoce su capacidad de detoxificación o su efecto de biomagnificación en el medio natural.

6.2. Tasas de salidas energéticas

6.2.1. Tasa consumo de oxígeno (TCO)

La disminución de la TCO de *A. nucleus* junto con la concentración de CMP en el agua es contrario al aumento verificado en bivalvos expuestos a moderados aumentos en la concentración de partículas (Bayne *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1992, 1994; Velasco y Navarro 2003; Serj *et al.*, 2004; Velasco, 2006; Chávez-Villalba, 2013; Kang *et al.*, 2015), pero coincide con la disminución de esta tasa a altas concentraciones de partículas (entre 10 - 200 mg L⁻¹; Grant y Thorpe 1991; Velasco y Navarro, 2003; Velasco, 2006). En estos estudios, se ha demostrado una relación directa entre la TCO y TA, indicando con eso que los costos implicados en las actividades de alimentación, digestión y absorción son variables y dependientes de la concentración del alimento. En el presente trabajo, esta relación no fue hallada ($r = -0,2578$, $p = 0,1804$). Se ha reportado que el CMP provoca en algunos invertebrados daños en el tejido de las branquias y bioacumulación de partículas en estas, lo que aparentemente afecta el intercambio de gases respiratorios y ocasiona la disminución del consumo de oxígeno (Pearce y McBride, 1977; Hillaby, 1981; Henley *et al.*, 2015). Así mismo, se ha evidenciado una disminución de la TCO al aumentar la concentración de HAP (Toro *et al.*, 2003), lo cual se ha explicado como efecto de la actividad enzimática relacionada con la degradación del componente (Stekoll *et al.*, 1980), y a un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa provocado por los HAP (Bayne *et al.*, 1982). La disminución de la TCO de *A. nucleus* en relación con el aumento en la concentración de CMP en el agua sugiere alteraciones en las funciones respiratoria y/o metabólica debido posiblemente a daños u obstrucción de las branquias o a nivel celular en los procesos involucrados en la obtención aeróbica de energía.

6.2.2. Tasa de excreción (TE)

La disminución de la TE de *A. nucleus* con el incremento de la concentración de CMP no coincide con el aumento de esta tasa en bivalvos expuestos a incrementos moderados en la concentración de partículas suspendidas (Grant y Thorpe, 1991; Velasco y Navarro, 2003; Sejr *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2016), pero si lo hace con el descenso de esta tasa verificado a muy altas concentraciones de seston ($>100 \text{ mg L}^{-1}$, Velasco y Navarro, 2003). En estos trabajos, se ha demostrado una relación directa entre la TE y TA, indicando con ello que entre mayor es la cantidad de materia orgánica absorbida, mayor es la utilización de las proteínas para generar energía o las pérdidas de aminoácidos del alimento no usados en anabolismo. En el presente estudio esta relación no fue hallada ($r = -0,2660$, $p = 0,1669$), muy posiblemente debido a la naturaleza de las partículas de carbón mineral y a la composición de las dietas. Si bien es cierto que tanto el carbón como las microalgas tienen un alto componente orgánico, el contenido de proteínas del carbón es muy bajo (7%, datos no publicados), comparado con el de la microalga *I. galbana* (38 - 40%, Batista *et al.*, 2013), por lo que las microalgas serían la principal fuente de proteínas tanto para anabolismo como para fuente de energía por catabolismo. Como las microalgas son un componente minoritario dentro las partículas ingeridas por *A. nucleus* a medida que aumentó la concentración del CMP, su TE también disminuyó.

6.3. Balance energético

6.3.1. Crecimiento potencial (SFG)

La disminución del SFG de *A. nucleus* frente al incremento de la concentración de CMP no coincide con el patrón de aumento de este índice en bivalvos expuestos al aumento en la concentración de seston, pero si con el descenso evidenciado a concentraciones muy altas (Navarro *et al.*, 1994; Bayne *et al.*, 1987; MacDonalds *et al.*, 1998; Velasco y Navarro, 2003; Velasco, 2006). En estos estudios se ha reportado que el SFG guarda una relación directa con la adquisición de energía del alimento representada en la TA, mientras que las salidas energéticas representadas como TCO y TE inciden en una pequeña escala sobre el SFG. En este estudio no se observa esta relación dado que el contenido de energía biológicamente utilizable en cada tratamiento depende de las microalgas, componente que se diluye ostensiblemente al aumentar la concentración de CMP haciendo que, aunque la TA aumente en estas condiciones, el contenido energético catabolizable del alimento disminuya. Es decir que, aunque la materia orgánica del carbón mineral es absorbida a una alta tasa a medida que se incrementa la concentración de partículas; al tener un bajo contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos con enlaces complejos (datos no publicados; De Leeuw y Largeau, 1993; Speight, 1994), estas difícilmente son susceptibles de ser atacados por enzimas metabólicas, impidiéndoles generar energía biológica.

Los bajos valores de SFG obtenidos en ejemplares de *A. nucleus* expuestos por 12 horas a altas concentraciones de CMP sugieren que este contaminante interfiere con su rendimiento fisiológico. La alta tasa de absorción de estas partículas señala un elevado potencial de bioacumulación de compuestos carcinógenos como HAP y metales pesados en estos bivalvos. Mientras que el descenso del SFG indica una dilución de los nutrientes aportados por las microalgas, y por tanto una disminución en la cantidad de energía que le queda disponible para crecer y reproducirse. Los resultados sugieren que frente a una exposición a mayores concentraciones de CMP y/o más prolongada en el tiempo, puedan hallarse valores de SFG negativos que indicarían condiciones de estrés severo que pueden ocasionar mortalidad, como los que se han hallado en estudios *in situ* con poblaciones expuestas a altos niveles de HAP disueltos en el agua (Bayne *et al.*, 1982; Widdows, 1985; Widdows *et al.* 1997; Toro *et al.*, 2003).

7. CONCLUSIONES

El aumento agudo de las concentraciones de carbón mineral particulado en el agua de mar ocasionó un aumento sobre las variables alimentarias de *A. nucleus* (tasas de filtración, producción de pseudoheces, tasa de ingestión y tasa de absorción). Mientras que la eficiencia de absorción presentó muy altos valores, independientemente de la concentración de CMP.

Las tasas de consumo de oxígeno y excreción de amonio disminuyeron junto con el aumento agudo de la concentración del carbón mineral particulado en el agua.

El aumento agudo en la concentración de polvillo de carbón mineral en el agua ocasionó una disminución en el crecimiento potencial de *A. nucleus* indicando con ello un aumento en los niveles de estrés fisiológico.

La exposición de los organismo al polvillo de carbón mineral en el agua con valores por encima de 10 mg L⁻¹ en un corto periodo de exposición (12 h), ocasiona una disminución en la disponibilidad de energía de los bivalvos para crecer y reproducirse, indicando con ello un aumento en los niveles de estrés. Con esto se puede inferir que se podrían causar alteraciones en la condición fisiológica de los organismos que viven en zonas con influencias de la actividad minera, ocasionando alta exposición a depredadores, mortalidad y alteraciones en la red trófica marina.

8. RECOMENDACIONES

Es recomendable profundizar en los efectos fisiológicos causados por la exposición prolongada al material en estudio, mediante la examinación histopatológicas de órganos como branquias, glándula digestiva, nefridio, músculo aductor y gónada de *A. nucleus*, de tal forma que se analice la ocurrencia de bioacumulación del carbón mineral particulado y la frecuencia de anomalías en células y tejidos.

Se recomienda realizar estudios similares utilizándose otros modelos biológicos y con compuestos derivados del mineral, lo cual permitan tener una idea más amplia sobre los efectos en el ecosistema marino.

Llevar a cabo trabajos parecidos en el medio natural en el que se evalúen índices como el crecimiento y supervivencia de las poblaciones cerca a lugares de incidencia a las actividades mineras.

Por último, cabe mencionar la importancia de todos estos estudios debido a la necesidad de que las autoridades de control ambiental, las empresas explotadoras, transportadoras, almacenadoras y exportadoras del recurso; así como también, la comunidad en general, tomen acciones para mitigar el impacto generado por el polvillo de carbón mineral sobre la salud de los ecosistemas del Caribe Colombiano.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, E., Gómez-León, J., 2013. Influencia de la densidad larval inicial de siembra y la concentración de alimento sobre la larvicultura de *Argopecten nucleus* (Ostreoida: Pectiniidae). Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras, 42(1), 73-90.
- Ahrens, M. J., Morrissey, D. J., 2005. Biological effects of unburnt coal in the marine environment. Oceanography and Marine biology, 43, 69-122.
- Bacon, G. S., MacDonald, B. A., Ward, J. E., 1998. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles I. Feeding activity and selection. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 219, 105–125.
- Baqueiro-Cárdenas, E. R., Borabe, L., Goldaracena-Islas, C. G., Rodríguez-Navarro, J., 2007. Los moluscos y la contaminación: Una revisión. Revista Mexicana de Biodiversidad. 78, 1-7.
- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., Raymundo, A., 2013. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. Algal Research, 2(2), 164-173.
- Bayne, B. L., Scullard, C., 1977. Rates of nitrogen excretion by species of *Mytilus* (Bivalvia: Mollusca). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 57(02), 355-369.
- Bayne, B. L., Widdows, J., Moore, M. N., Salkeld, P., Worrall, C. M., Donkin, P., 1982. Some ecological consequences of the physiological and biochemical effects of petroleum compounds on marine molluscs. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, 297(1087), 219-239.
- Bayne, B.L., Newell, R.C., 1983. Physiological energetics of marine molluscs. In: A.S.M. de Saleuddin y K.M. Wilbur (Eds.). The Mollusca, vol. 4. Physiology, part 1. Academic Press, New York, 407-515 p.
- Bayne, B. L., Hawkins, A. J. S., Navarro, E., 1987. Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* L.(Bivalvia: Mollusca) in mixtures of silt and algal cells at low concentrations. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 111(1), 1-22.
- Bayne, B. L., Iglesias, J. I. P., Hawkins, A. J. S., Navarro, E., Heral, M., Deslous-Paoli, J. M., 1993. Feeding behaviour of the mussel, *Mytilus edulis*: responses to variations in quantity and organic content of the seston. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 73(4), 813-829.
- Beninger, P. G., Dufour, S. C., Bourque, J., 1997. Particle processing mechanisms of the eulamellibranch bivalves *Spisula solidissima* and *Mya arenaria*. Marine Ecology Progress Series, 157-169.
- Berry, K. L., Hoogenboom, M. O., Flores, F., Negri, A. P., 2016a. Simulated coal spill causes mortality and growth inhibition in tropical marine organisms. Scientific reports, 6.
- Berry, K. L., Hoogenboom, M. O., Brinkman, D. L., Burns, K. A., Negri, A. P., 2016b. Effects of coal contamination on early life history processes of a reef-building coral, *Acropora tenuis*. Marine Pollution Bulletin, 114 (1), 505-514.
- Caballero-Gallardo, K., Guerrero-Castilla, A., Johnson-Restrepo, B., de la Rosa, J., Olivero-Verbel, J., 2015. Chemical and toxicological characterization of sediments along a Colombian shoreline impacted by coal export terminals. Chemosphere, 138, 837-846.
- Campbell, P.M., Devlin, R.H., 1997. Increased CYP1A1 and ribosomal protein L5 gene expression in a teleost: the response of juvenile Chinook salmon to coal dust exposure. Aquatic Toxicology 38, 1–15.
- Chávez-Villalba, J., Soye, C., Aurentz, H., Le Moullac, G., 2013. Physiological responses of female and male black-lip pearl oysters (*Pinctada margaritifera*) to different temperatures and concentrations of food. Aquatic Living Resources, 26(3), 263-271.
- Conover, R.J., 1966. Factors affecting the assimilation of organic matter by zooplankton and the question of superfluous feeding. Limnology and Oceanography, 11, 346-3.
- De Leeuw, J. W., Largeau, C., 1993. A review of macromolecular organic compounds that comprise living organisms and their role in kerogen, coal, and petroleum formation. p. 23-72. In: Engel,

- M. H., Macko, S. A. (Eds.). Organic geochemistry: principles and applications (Vol. 11). Plenum New York. 861 p.
- Drummond Ltd., 2016. Hundimiento de barcasas. <http://www.drummondco.com/drummond-ltd-responde-con-hechos-y-pregunta-por-que/?lang=es>. Fecha de acceso: 23 de mayo de 2016.
- Elliot, J., Davison, W., 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia* 19, 195-201.
- Fernández-Reiriz, M. J., Navarro, J. M., Labarta, U., 2005. Enzymatic and feeding behaviour of *Argopecten purpuratus* under variation in salinity and food supply. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 141(2), 153-163.
- Foster-Smith, R. L., 1975a. The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (Montagu). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 17(1), 1-22.
- Foster-Smith, R. L., 1975b. The effect of concentration of suspension and inert material on the assimilation of algae by three bivalves. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 55(2), 411-418.
- Franco-Herrera, A., Grijalba-Bendeck, L.M., Ibáñez-Reyes, J.P., Daza-Gómez, J.N., 2011. Carbón, clima, playas y peces. El caso de la zona costera del departamento del Magdalena. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá D.C. 186 p.
- Gnaiger, E., 1983. Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. p. 337-345. In: Gnaiger, E., Forstner, H. (Eds.). *Polarographic oxygen sensors: Aquatic and Physiological Applications*. Springer, Berlin, 370 p.
- Gómez-León, J., Acosta, E., Castellanos, C., Santos-Acevedo, M., 2010. Cultivo de scallops en sistema suspendido "long line". p. 69-93. En: Gómez-León, J. (Ed.). *Cultivo de Pectínidos en el Caribe colombiano. Proyecto. Optimización de la producción de postlarvas del ostión *Nodipecten nodosus* y la conchuela *Argopecten nucleus* en el Caribe colombiano código 2105-09-17982. Serie de Publicaciones Generales N° 40. Santa Marta, 160 p.*
- Grant, J., Cranford, P. J., 1991. Carbon and nitrogen scope for growth as a function of diet in the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 71(2), 437-450.
- Grant, J., Thorpe, B., 1991. Effects of suspended sediment on growth, respiration, and excretion of the soft-shell clam (*Mya arenaria*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(7), 1285-1292.
- Guillard, R. R. L., 1974. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. p. 29-60. In: Smith, W. L., Chanley, M. H. (Eds.). *Culture of marine invertebrate animals*. Plenum Publishing Corporation, New York, 338 p.
- Henley, W. F., Johnson, N. G., Ciparis, S., Hanlon, S. D., Heffinger, D. G., 2015. Effects of coal particles in aquatic sediments on organ tissues of Rainbow mussels *Villosa iris* (Unionidae). *Journal of Shellfish Research*, 34(3), 1019-1027.
- Hillaby, B.A., 1981. The effects of coal dust on ventilation and oxygen consumption in the Dungeness crab, *Cancer magister*. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences No. 1033, 1-18.
- Hyslop, B.T., Davies M.S., 1998. Evidence for abrasion and enhanced growth of *Ulva lactuca* L. in the presence of colliery waste particles. *Environmental Pollution*, 101, 117-121.
- Iglesias, J. I. P., Navarro, E., Jorna, P. A., Armentina, I., 1992. Feeding, particle selection and absorption in cockles *Cerastoderma edule* (L.) exposed to variable conditions of food concentration and quality. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 162(2), 177-198.
- Iglesias, J. I. P., Urrutia, M. B., Navarro, E., Alvarez-Jorna, P., Larretxea, X., Bougrier, S., Heral, M., 1996. Variability of feeding processes in the cockle *Cerastoderma edule* (L.) in response to changes in seston concentration and composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 197(1), 121-143.
- Iglesias, J. I. P., Urrutia, M. B., Navarro, E., Ibarrola, I., 1998. Measuring feeding and absorption in suspension-feeding bivalves: an appraisal of the biodeposition method. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 219(1), 71-86.
- Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, 2001. Impacto del polvillo de carbón en la salud humana, los materiales y ecosistemas marino-costeros. Informe técnico. Santa Marta. 105 p.

- Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, 2002. Informe ambiental preliminar del hundimiento de la barcaza "Caribe-217" cargada con carbón en el puerto de Santa Marta, Abril 11 del 2002. Informe técnico, Santa Marta, 10 p.
- International Energy Agency, 2016. Key Coal Trends. Excerpt From: Coal Information (2016 Edition). Available at: <https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/KeyCoalTrends.pdf> (Accessed 5 August 2016).
- Jaffrenou, C., Giamarchi, P., Cabon, J. Y., Stephan, L., Burel-Deschamps, L., Bautin, F., Le Floch, S., 2007a. Simulations of accidental coal immersion. *Marine Pollution Bulletin*, 54(12), 1932-1939.
- Jaffrenou, C., Stephan, L., Giamarchi, P., Cabon, J. Y., Burel-Deschamps, L., Bautin, F., 2007b. Direct fluorescence monitoring of coal organic matter released in seawater. *Journal of fluorescence*, 17(5), 564-572.
- Johnson, R., Bustin, R. M., 2006. Coal dust dispersal around a marine coal terminal (1977–1999), British Columbia: The fate of coal dust in the marine environment. *International journal of coal geology*, 68(1), 57-69.
- Jones, A. A., Ellis, D.V., 1976. Sub-obliterative effects of mine-tailing on marine infaunal benthos. *Water, Air, and Soil Pollution*, 5(3), 299-307.
- Kang, H.Y., Lee, Y.J., Choi, K. S., Park, H. J., Yun, S. G., Kang, C. K., 2016. Combined Effects of Temperature and Seston Concentration on the Physiological Energetics of the Manila Clam *Ruditapes philippinarum*. *PloS one*, 11(3), e0152427.
- Keating, M., 2001. The environmental impacts from coal. Boston: Clean air task force, 1-9.
- Kjørboe T., Møhlenberg F., Nøhr O., 1980. Feeding, particle selection and carbon absorption in *Mytilus edulis* in different mixtures of algae and resuspended bottom material. *Ophelia* 19 (2) 193-205.
- Kjørboe, T., Møhlenberg, F., Nøhr, O., 1981. Effect of suspended bottom material on growth and energetics in *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 61(4), 283-288.
- MacDonald, B. A., Bacon, G. S., Ward, J. E., 1998. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles: II. Absorption efficiency and scope for growth. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 219(1-2), 127-141.
- Møhlenberg, F., Riisgard, H. U., 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. *Ophelia*, 17(2), 239-246.
- Naidoo, G., Chirkoot, D., 2004. The effects of coal dust on photosynthetic performance of the mangrove, *Avicennia marina* in Richards Bay, South Africa. *Environmental Pollution*, 127(3), 359-366.
- Naidoo, G., Naidoo, Y., 2005. Coal dust pollution effects on wetland tree species in Richards Bay, South Africa. *Wetlands Ecology and Management*, 13(5), 509-515.
- Navarro, E., Iglesias, J. I. P., Ortega, M. M., 1992. Natural sediment as a food source for the cockle *Cerastoderma edule* (L.): effect of variable particle concentration on feeding, digestion and the scope for growth. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 156(1), 69-87.
- Navarro, E., Iglesias, JIP, Ortega, MM, Larretxea, X., 1994. La base para una respuesta funcional a la cantidad y calidad variable de alimentos en berberechos *Cerastoderma edule* (Bivalvia, Cardiidae). *Zoología fisiológica*, 67 (2), 468-496.
- Navarro, J. M., Widdows, J., 1997. Feeding physiology of *Cerastoderma edule* in response to a wide range of seston concentrations. *Marine Ecology Progress Series*, 152, 175-186.
- Navarro, E., Méndez, S., Urrutia, M. B., Arambalza, U., Ibarrola, I., 2016. Digestive selection underlies differential utilization of phytoplankton and sedimentary organics by infaunal bivalves: Experiments with cockles (*Cerastoderma edule*) using cross-labelled mixed diets. *Marine Environmental Research*, 120, 111-121.
- Olivero, J., Caballero, K., Guerrero, A., 2013. Implicaciones de la minería del carbón en el ambiente y la salud humana: Una aproximación abreviada al estado del arte. p. 229-252. En: Viana, J. (Ed.). *Minería en Colombia: Institucionalidad y territorio, paradojas y conflictos*. Volumen 2. Contraloría General de la Nación. Bogotá. Colombia. 341 p.
- Palmer, R. E., Williams, L. G., 1980. Effect of particle concentration on filtration efficiency of the bay scallop *Argopecten irradians* and the oyster *Crassostrea virginica*. *Ophelia*, 19(2), 163-174.

- Pearce, B.C., McBride, J., 1977. A preliminary study on the occurrence of coal dust in Roberts Bank sediments and the effect of coal dust on selected fauna. FMS Technical Report Series. PAC/T-77-17.
- Razet, D., M. Heral, J. Prou, J. Legrand and J.M. Somin, 1990. Variations des productions de biodepots (feces et pseudofeces) de l'huître *Crassostrea gigas* dans un estuaire macrotidal: Baie de Marennes-Oliron, Haliotis, 10, pp. 143-3161.
- Rodríguez-Satizábal, S. A., Castellanos, C., Contreras, G., Franco, A., Serrano, M., 2015. Efectos letales y subletales en juveniles de *Argopecten nucleus* expuestos a lodos de perforación. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR, 44(2), 303-326.
- Sejr, M. K., Petersen, J. K., Jensen, K. T., Rysgaard, S., 2004. Effects of food concentration on clearance rate and energy budget of the Arctic bivalve *Hiatella arctica* (L) at subzero temperature. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 311(1), 171-183.
- Shaw, D.G., Wiggs, J.N., 1980. Hydrocarbons in the intertidal environment of Kachemak Bay, Alaska. Marine Pollution Bulletin 11, 297-300.
- Siboni, N., Fine, M., Bresler, V., Loya, Y., 2004. Coastal coal pollution increases Cd concentrations in the predatory gastropod *Hexaplex trunculus* and is detrimental to its health. Marine pollution bulletin, 49(1), 111-118.
- Solorzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. Limnology and oceanography, 14(5), 799-801.
- Speight, J. G., 1994. Coal as an Organic Sediment. p. 41-79. In: Taylor., F. (Ed.). The Chemistry and Technology of Coal, Second Edition. Western Research Institute Laraine, Wyioming. New York, 664 p.
- Stekoll, M. S., Clement, L. E., Shaw, D. G., 1980. Sublethal effects of chronic oil exposure on the intertidal clam *Macoma balthica*. Marine Biology, 57(1), 51-60.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2nd. ed. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada 167, 310p.
- Thompson, R., Bayne, B. L., 1972. Active metabolism associated with feeding in the mussel *Mytilus edulis* L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 9(1), 111-124.
- Toro, B., Navarro, J. M., Palma-Fleming, H., 2003. Relationship between bioenergetics responses and organic pollutants in the giant mussel, *Choromytilus chorus* (Mollusca: Mytilidae). Aquatic toxicology, 63(3), 257-269.
- Toro-Restrepo, B., 2011. Uso de los biomarcadores en la evaluación de la contaminación. Revista Luna Azul. 32, 121-127.
- Universidad Jorge Tadeo Lozano, 2013. Evaluación ambiental del impacto causado por la barcaza TS-115 en el área de anclaje de Puerto Drummond, Ciénaga-Magdalena, Caribe Colombiano. 406 p.
- Unidad de Planeación Minero Energética, 2012. La cadena del carbón. Ministerio de Minas y Energía: Unidad de Planeación Minero Energética, Republica de Colombia. 80 p.
- Velasco, L. A., Navarro, J. M., 2002. Feeding physiology of infaunal (*Mulinia edulis*) and epifaunal (*Mytilus chilensis*) bivalves under a wide range of concentrations and qualities of seston. Marine Ecology Progress Series, 240, 143-155.
- Velasco, L. A., Navarro, J. M., 2003. Energetic balance of infaunal (*Mulinia edulis* King, 1831) and epifaunal (*Mytilus chilensis* Hupé, 1854) bivalves in response to wide variations in concentration and quality of seston. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 296(1), 79-92.
- Velasco, L. A., Navarro, J. M., 2005. Feeding physiology of two bivalves under laboratory and field conditions in response to variable food concentrations. Marine Ecology Progress Series, 291, 115-124.
- Velasco, L.A., 2006. Effect of microalgal concentration and water temperature on the physiology of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. Journal of Shellfish Research, 25 (3), 823-831.
- Velasco, L. A., 2007. Energetic physiology of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus* fed with different microalgal diets. Aquaculture, 270(1), 299-311.
- Velasco, L. A., Barros, J., 2007. Potential for hatchery broodstock conditioning of the Caribbean scallops *Argopecten nucleu* and *Nodipecten nodosus*. Aquaculture, 272(1), 767-773.

- Velasco, L.A., Barros, J., Acosta, E., 2007. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture* 266 (1), 153–165.
- Velasco, L. A., 2008. Acondicionamiento reproductivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia. p. 65-86. En: Velasco, L.A. (Ed.). *Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia*. Universidad del Magdalena, Santa Marta. 258 p.
- Velasco, L. A., Barros, J., 2008. Puesta y fecundación de los pectínidos de interés comercial de Colombia. p. 87-106. En: Velasco, L.A. (Ed.). *Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia*. Universidad del Magdalena, Santa Marta. 258 p.
- Velasco, L. A., Barros, J., 2009. Survival and growth of hatchery-produced postlarvae and spat of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture Research*, 40(3), 362-375.
- Velasco, L. A., Barros, J., 2010. Spat collection and experimental culture of the atlantic Pearl Oyster, *Pinctada imbricata* (Bivalvia: Pteriidae), under suspended conditions in the Caribbean. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(3), 281-297.
- Velasco, L. A., Carrera, S., Barros, J., 2016. Isolation, culture and evaluation of *Chaetoceros muelleri* from the Caribbean as food for the native scallops, *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(3), 557.
- Viarengo, A., Canesi, L., 1991. Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, 94(2), 225-243.
- Ward, E. J., MacDonald, B. A., 1996. Pre-ingestive feeding behaviors of two sub-tropical bivalves (*Pinctada imbricata* and *Arca zebra*): responses to an acute increase in suspended sediment concentration. *Bulletin of Marine Science*, 59(2), 417-432.
- Warren, C.E., Davis, G.E., 1967. Laboratory studies on the feeding, bioenergetics, and growth of fish. p. 175-214. In: Gerking, S.D. (Ed.). *The biological basis of freshwater fish production*. Blackwell, Oxford, 495 p.
- Weng, N., Wang, W. X., 2014. Improved tolerance of metals in contaminated *Oyster larvae*. *Aquatic Toxicology*. 146, 61-69.
- Widdows, J., 1985a. Physiological measurements. p 3-40. In: Bayne, B.L., Brown, D.A., Burns, K., Dixon, D.R., Ivañovici, A., Livingstone, D.R., Lowe, D.M., Stebbing, A.R.D., Widdows, J. (Eds.), *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. Praeger Scientific Publications, New York, 384 p.
- Widdows, J., 1985b. Physiological procedures. p. 161-178. In: Bayne, B.L., Brown, D.A., Burns, K., Dixon, D.R., Ivanovici, A., Livingstone, D.R., Lowe, D.M., More, M.N., Stebbing, A.R.D., Widdows, J. (Eds.). *The effects of stress and pollution on marine animals*. Praeger Scientific Publications, New York, 384 p.
- Widdows, J., Donkin, P., 1991. Role of Physiological Energetics in Ecotoxicology. Mini-Review. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 100C, 65-79.
- Widdows, J., Donkin, P., Brinsley, M.D., Evans, S.V., Salkeld, P.N., Franklin, A., Law, R.J., Waldock, M.J., 1995. Scope for growth and contaminant levels in North Sea mussels *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*. 127, 131-148.
- Widdows, J., Naschi, C., Fossato, V. U., 1997. Effects of pollution on the scope for growth of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Venice Lagoon, Italy. *Marine Environmental Research*, 43(1-2), 69-79.